

## Spurenelemente in Organen und Urin bei Krebs

Von K. PFEILSTICKER

*Aus dem Chemischen Untersuchungsamt der Stadt Stuttgart (Direktor: Chemiedirektor Dr. K. Behringer)*

(Eingegangen am 30. Januar 1965)

Lungen mit Lungencarcinom wurden emissionsspektralanalytisch auf 13 Spurenelemente untersucht. Fast immer weist der Tumor kleinere Gehalte auf als das Gewebe in der Umgebung des Tumors. Die Gehalte gesunder Lungen liegen entweder dazwischen oder darüber. Ausnahmen bilden Nickel, Kobalt und besonders Vanadium. Mit der gleichen Methode wurden Zink und Molybdän im Urin bestimmt. Bei Krebs wird im Mittel über 2000 µg/l Zink mit dem Harn ausgeschieden — etwa dreimal mehr als bei anderen Patienten und fünfmal mehr als bei Gesunden. Der Molybdängehalt des Urins geht dagegen bis auf die Hälfte zurück. Das Verhältnis Zn/Mo wird fünf- bis zehnmal größer. Die Veränderungen sind nicht ganz spezifisch für Krebs, sie treten auch bei einigen anderen Krankheiten auf, wenn auch nicht immer in gleichem Ausmaß. Ein Zn/Mo-Verhältnis über 300 legt den Verdacht auf ein Carcinom nahe.

Lungs containing pulmonary carcinomas were analysed for 13 trace elements by emission spectroscopy. Almost always, the tumor contained lower levels than the tissue surrounding it. The levels in healthy lungs were either intermediate or higher. Exceptions were nickel, cobalt, and especially vanadium. Using the same method, zinc and molybdenum were determined in urine. In cancer cases, an average of more than 2000 µg/l of zinc was excreted in the urine, i. e., about three times that for other patients and five times that for healthy persons. The molybdenum content of the urine was, however, decreased by as much as one half. The Zn/Mo ratio was five to ten times higher. The changes are not fully specific for cancer; they occur in other illnesses, though less pronounced. A Zn/Mo ratio higher than 300 is suggestive of cancer.

Im folgenden werden einige Ergebnisse unserer lang-jährigen emissionsspektralanalytischen Untersuchungen von klinischem Material mitgeteilt. Unser Interesse richtete sich besonders auf die Veränderungen der Spurenelementgehalte, die mit der Erkrankung an Krebs verbunden sind. Mit einer spektralanalytischen Methode haben TIETZ, HIRSCH und NEYMAN (1) den Gehalt der Lunge, Leber und Niere an 13 Spurenelementen bei Krebs untersucht, wobei sie davon ausgingen, daß Spurenelemente eine cancerogene Wirkung haben können. Die Spurenelementgehalte in den genannten Organen waren bei Krebs häufig erhöht, fast immer enthielt aber der Tumor selbst erheblich kleinere Gehalte an Spurenelementen als das noch gesunde Gewebe in seiner Umgebung. Die Armut der Geschwulst an Spurenelementen hatten schon früher OLSON, HEGGEN und EDWARDS (2) festgestellt.

Wir haben in 10 Fällen von Lungenkrebs die Lungen auf Spurenelemente untersucht. Im Urin von 77 Krebskranken und von 159 krebsfreien Personen bestimmten wir den Zink- und den Molybdängehalt. Für die Untersuchungen wurde eine von uns entwickelte spektralanalytische Methode verwendet.

### Methodik

Die Methode, die allgemein auf biologisches Material anwendbar ist, beruht auf Veraschung mit gleichzeitiger

Anreicherung der Spurenelemente, Fixierung der angereicherten Asche auf ebenen Elektroden mit Hilfe einer „Haftlösung“ und Anregung im Wechselstrom-Abreibbogen oder besser im Niederspannungsfunken. Bestimmbar sind die Elemente Fe, Cu, Zn, Mn, Pb, Sn, Ag, Ni, Co, Ti, Cr, Mo, V und verschiedene andere.

Zur Analyse wird das Material (entsprechend einer Trockensubstanzmenge bis zu 400 mg) bei 450° verascht, zuletzt unter Zugabe von wenig  $Mg(NO_3)_2$  als Veraschungshilfe. Wegen der Gefahr der Verunreinigung wurde das Material nicht gemahlen, sondern es wurden mit Messer und Schere aus nichtrostendem Stahl an vielen Stellen der Probe kleine Stücke entnommen. Die Spurenelemente werden während der Veraschung angereichert, indem man die entstehende Kohle und Asche mit kleinen Mengen eines Schwermetall-Fällungsreagenzes bei einem pH von etwa 4,5 unter Verwendung eines Filterstäbchens auszieht und so die Hauptmineralstoffe zum größten Teil entfernt. Schon zu Beginn der Analyse werden die Bezugselemente (Pd, In, Cd, Bi) zugesetzt, die gleichzeitig als Trägerelemente dienen. Die angereicherte Asche wird in ein 3-ml-Zentrifugenglas übergeführt und dort noch einmal mit dem Fällungsreagenz behandelt. Schließlich wird sie zusammen mit 0,010 ml einer Lösung, die eine filmbildende Substanz neben spektralanalytischen Puffern und einem Suspensionsmittel enthält („Haftlösung“), auf die flache Stirnseite von zwei Elektroden gebracht und dort eingetrocknet. Der entstehende festhaftende, harte Filmüberzug fixiert die Asche auf der Elektrode.

### Aufnahmebedingungen

#### Elektroden

Material: Graphit, mit Polystyrol abgedichtet, oder Aluminium, 99,995-proz.

Form: Kegelstumpf, Stirnfläche 3,5 mm Ø, 90°,  
Ø der Elektrode 5 mm  
Gegenelektrode: Material und Form wie Trägerelektrode,  
ohne Probesubstanz  
Elektrodenabstand: 2 mm  
Spektrograph: Quarzspektrograph 110 M (Fa. Fuess);  
Dreistufenfilter; Zwischenabbildung.  
Spaltbreite: 12 µ  
Anregung: Niederspannungsfunken  
Ladespannung: 220 V Wechselstrom  
Ladewiderstand: 40 Ohm  
Kapazität: 30 µF  
Selbstinduktion: 4000 µH, kein Dämpfungswiderstand  
Zündfolgefrequenz: 100/Sek.  
Zündhilfe: Lockkabel  
Abbrennzeit: 10 Sek., ohne Vorfunkeln (die Probe-  
substanz verdampft vollständig)

Wird der Wechselstrom-Abreibbogen mit Hochfrequenzzündung zur Anregung verwendet, so sind die Bedingungen: 220 V; Vorwiderstand 10 Ohm (Brennstromstärke etwa 18 A); Rhythmus Stromübergang: Pause = 1:3; Wiederholungen 2/Sek., Zündung im Maximum jeder Halbwelle; Abbrennzeit 10 Sek.

Die Auswertung der Spektren erfolgte mit einem Spektrallinienphotometer in Verbindung mit dem Rechengerät nach KAISER. In bekannter Weise wurden die gemessenen Schwärzungen der Bezugs- und der Analysenlinien in die Logarithmen der Intensitäten umgewandelt. Der spektrale Untergrund wurde neben jeder Linie gemessen und zur Korrektur verwendet. Schließlich ergab sich die gesuchte Konzentration aus einem Eichdiagramm oder über eine Konzentrationsleiter.

Obwohl diese Art der Auswertung leitprobenfrei ist, haben wir zur Kontrolle jedesmal auch eine Reihe von Testproben aufgenommen, die mit genau abgemessenen verschiedenen Mengen einer Kontroll-Lösung hergestellt und wie das Untersuchungsmaterial weiterbehandelt wurden. Etwa sich ergebende Abweichungen der Testreihe vom Sollwert wurden gemittelt und bei der Auswertung der Analysenproben als Korrektur berücksichtigt. Traten größere Korrekturen auf, so wurde die Kontroll-Lösung nachgeprüft und erneuert.

Nähere Einzelheiten der gesamten Methode werden an anderer Stelle veröffentlicht. Etwas modifiziert wird sie von uns zur Bleibestimmung in biologischem Material benutzt (3).

## Ergebnisse

### Spurenelemente in der Lunge

Die genannten 13 Spurenelemente haben wir in der Lunge bei Lungenkrebs bestimmt. Untersucht wurden 1. der eigentliche Lungentumor (11 Proben), 2. das noch gesunde Gewebe in der Umgebung der Geschwulst

Tab. 1  
Spurenelemente in formolfixierten Lungen  
(Werte in µg/g = ppm)

	Lungen mit Geschwulst	Lungencarcinom Gesundes Gewebe der Umgebung	Lungen ohne Carcinom
Fe	18	37	62
Cu	2,6	3,3	2,4
Zn	20,5	24,5	23,1
Mn	0,27	0,46	0,36
Pb	0,38	0,56	0,59
Sn	0,17	0,46	0,73
Ag	0,05	0,04	0,04
Ni	0,09	0,13	0,06
Co	0,02	0,07	0,013
Ti	0,5	1,2	0,5
Cr	0,29	0,76	0,24
Mo	0,028	0,055	0,09
V	0,18	0,1	0,045

Tab. 2  
Verhältniszahlen, bezogen auf die Gehalte der Vergleichslungen  
ohne Carcinom

	Geschwulst	Gesundes Gewebe	Lungen ohne Carcinom
Fe	0,29	0,60	1
Cu	1,1	1,4	1
Zn	0,89	1,06	1
Mn	0,75	1,28	1
Pb	0,65	0,95	1
Sn	0,23	0,63	1
Ag	1,3	1	1
Ni	1,5	2,2	1
Co	1,5	5	1
Ti	1	2,4	1
Cr	1,2	3,2	1
Mo	0,31	0,61	1
V	4	2	1

(31 Proben) in 10 Fällen von Lungenkrebs, 3. zum Vergleich 10 Lungen von krebsfreien Fällen<sup>1)</sup>. Die Mittelwerte der drei Gruppen sind in Tabelle 1 aufgeführt; sie beziehen sich auf formolfixiertes Material.

<sup>1)</sup> Das Sektionsmaterial verdanken wir Frau Professor Dr. M. SCHMIDTMANN, damals Direktorin des Pathologischen Instituts des Katharinenhospitals Stuttgart.

Tab. 3

Spurenelemente im Tumor und im benachbarten Gewebe bei Brustkrebs, bezogen auf Trockensubstanz und auf fettfreie Trockensubstanz

Nr.		Fe	Cu in der Trockensubstanz µg/g	Zn	Fett %	Fe in der fettfreien Trockensubstanz µg/g	Cu	Zn
I	Tumor	90	3,7	147				
	Umgebung	42	2,7	21				
II	Tumor	46	5,0	15,7	14	54	5,8	18,0
	Nähere Umgebung	42	2,6	5,0	62	110	6,9	13,2
	Entfernteres Gewebe	9,0	3,6	3,6	30	12,8	5,1	5,1
III	Tumor	67	14,7	37	2,2	69	15	38
	Umgebung	14,2	3,5	5,9	52	29	7,3	12,2
IV	Tumor	156	14,6	74	50	312	29	150
	Umgebung	14,5	3,1	2,9	39	24	5,1	4,6

Die — nicht angegebenen — Streuungen sind ziemlich groß. Deshalb und wegen der kleinen Probenzahl kann nur von einer gewissen Tendenz gesprochen werden, nach der sich die Mittelwerte von Gruppe zu Gruppe ändern. Diese Tendenz stimmt aber bei den meisten Elementen überein. Sie tritt in Tabelle 2 deutlicher hervor. Dort ist der Gehalt für jedes Spurenelement in den Vergleichslungen gleich 1 gesetzt. In Übereinstimmung mit der Literatur (1, 2) wurden im Tumor bei den meisten Elementen kleinere Spurenelementgehalte gefunden als in der Umgebung des Tumors. Der Gehalt der Vergleichslungen liegt gewöhnlich dazwischen. Bei Eisen, Zinn und Molybdän weisen die Vergleichslungen die höchsten Gehalte auf. Das Minimum ergab sich auch hier in der eigentlichen Geschwulst. Ein Anstieg in der Richtung zum Tumor hin zeigte sich nur beim Vanadiumgehalt. Bemerkt sei noch, daß die Co-, Ti- und V-Gehalte in manchen Proben unter der Nachweisgrenze lagen. Für diese Proben wurde zur Berechnung der Mittelwerte ein Gehalt von  $0,01 \mu\text{g/g}$  angenommen.

Auch in *anderen Organen*, so z. B. in Leber und Niere, haben wir im Tumor kleinere Spurenelementgehalte gefunden als im Gewebe der Umgebung. Eine Ausnahme bildete regelmäßig der Brustkrebs. Hier enthielt der Tumor mehr Fe, Cu und Zn als das übrige Gewebe (Tab. 3). Soweit nachgeprüft verhalten sich andere Spurenelemente gleich.

Das Gewebe der Brustdrüse ist sehr fettreich. Fett enthält nur sehr kleine Mengen Spurenelemente. Der Tumor hat häufig einen kleineren Fettgehalt als seine Umgebung. Wir vermuteten deshalb, daß eine Berechnung der Spurenelementgehalte auf fettfreie Trockensubstanz zu einer anderen Reihenfolge führen könnte. In Tabelle 3 sind deshalb auch die Fettgehalte und die auf fettfreie Trockensubstanz berechneten Werte für Fe, Cu und Zn angegeben. Die dazu notwendige Fettbestimmung brauchte nicht genau zu sein, sie mußte aber möglichst einfach sein und mit einer kleinen Menge Untersuchungsmaterial auskommen. Wir haben daher das Fett im Verlauf des Analysengangs in der gleichen Probe bestimmt wie die Spurenelemente. Eine Verunreinigung des Materials darf dabei selbstverständlich nicht eintreten. Die getrocknete Substanz wurde in einer 10 ml-Platinschale unter leichtem Erwärmen mit einigen ml Tetrachlorkohlenstoff p. a. behandelt. Die das Fett enthaltende Lösung wurde durch ein Platinfilterstäbchen mit Platinfritte abgesaugt. Das Verfahren wurde wiederholt bis zur Gewichtskonstanz. Für den vorliegenden Zweck genügt die Genauigkeit dieser Fettbestimmung<sup>1)</sup>.

Durch die Berechnung auf fettfreie Trockensubstanz werden die Relationen zwar mehr oder weniger geändert, sie werden aber im allgemeinen nicht umgekehrt. Ausnahmen sind nur der Fe- und der Cu-Gehalt in Carci-

nomII, die jetzt von der unmittelbaren Umgebung zum Tumor hin abfallen. In allen anderen Fällen weist der Tumor immer noch die höchsten Konzentrationen auf. Trotzdem kann es bei fettreichen Geweben richtiger sein, die Gehalte der Spurenelemente auf fettfreie Trockensubstanz zu beziehen.

Veränderungen des Spurenelementgehaltes können auch durch eine *Zersetzung* des Materials bewirkt werden. Die organische Substanz geht verloren, während die Spurenelemente zurückbleiben. Manche Tumoren sind hochgradig nekrotisch und zersetzen sich sehr rasch. Dadurch wird ein erhöhter Spurenelementgehalt vorgetäuscht. Fixierung mit einem spurenelementfreien Fixierungsmittel oder Tiefkühlung des Materials ist immer angezeigt, wenn die Untersuchung nicht unmittelbar nach der Entnahme vorgenommen werden kann. Schließlich hat auch die sorgfältige Trennung des Krebsgewebes von dem noch gesunden Gewebe einen Einfluß auf das Ergebnis.

### Zink und Molybdän im Urin

Soweit man einen Zusammenhang von Spurenelementen und Krebs für möglich hält, geschieht es meist in dem Sinn, daß man die Krankheit auf eine Schädigung des Organismus durch eine zu große Menge eines Spurenelementes zurückführt, die der Körper aus der Luft oder mit der Nahrung aufgenommen hat. Das Spurenelement wird als anorganisches Carcinogen aufgefaßt (1). Beispiele dafür sind die krebserzeugenden Spurenelemente Arsen und Chrom.

Als auslösender Faktor für einen Krebs kommt aber auch ein Mangel an einem oder an mehreren Spurenelementen in Frage. Es genügt, darauf hinzuweisen, daß Spurenelemente wesentliche Bestandteile oder Aktivatoren von Enzymen sind. Ein Mangelzustand am Wirkungsort eines Spurenelementes kann auf eine sehr verschiedenartige Weise entstehen, so z. B. dadurch, daß ein Spurenelement durch ein anderes verdrängt wird. Wird ein auf Verdrängung zurückzuführender Mangelzustand als krebserzeugender Faktor für möglich gehalten, so wären besonders auch solche Spurenelemente in die Untersuchungen einzubeziehen, die Anionen bilden. Arsen und Chrom treten als Anionen auf, Chrom gilt nur in der Chromatstufe als krebserzeugend. Über das physiologische Verhalten der anionischen Spurenelemente, zu denen Bor, Silicium, Titan, Germanium, Zinn, Vanadium, Molybdän, Wolfram, Selen und andere gehören, ist noch nicht allzuviel bekannt.

Wir haben deshalb das *Molybdän* etwas eingehender untersucht. Bei Lungenkrebs enthalten auch die noch nicht befallenen Teile der Lunge weniger Molybdän als die Vergleichslungen (Tab. 1 und 2). Ebenso zeigt eine Auswertung der Zahlenangaben von TIERZ u. a. (1), daß der Molybdängehalt in Lunge und Leber bei Krebs im Mittel niedriger ist als in den Fällen ohne Krebs. Allerdings trifft diese Feststellung für den Molybdängehalt der Niere nicht zu. Wir haben uns auf die Bestimmung des Molybdäns im *Urin* beschränkt,

<sup>1)</sup> Die Fettbestimmungen wurden von Herrn Dr. WILK durchgeführt. Das Sektionsmaterial verdanken wir Herrn Dr. SCHNEIDER, Oberarzt am Pathologischen Institut des Katharinenhospitals Stuttgart.

weil uns Urinproben in ausreichender Zahl zur Verfügung standen, in dem Gedanken, daß ein etwa bestehender Molybdänmangel auch im Molybdän-Gehalt des Urins zum Ausdruck kommen könnte.

Gleichzeitig wurde in den Urinen das *Zink* bestimmt, weil bald zu erkennen war, daß der Zinkgehalt des Urins bei Krebs oft erhöht ist. Die ebenfalls ermittelten Eisen- und Kupfergehalte im Urin ergaben bei Krebs keine auffallenden Abweichungen. Linien anderer Elemente in den Spektren wurden aus Zeitmangel nicht ausgewertet.

Für die Analyse wurde ein aliquoter Teil — meist 10 ml — des 24-Stunden-Urins verwendet, der in einem besonders gereinigten Kunststoff- oder Glasgefäß geschützt vor Verunreinigungen gesammelt wurde. Zwischen 1958 und 1961 wurden 77 Urine von Krebspatienten und 159 Urine von krebsfreien Personen, die aber in den meisten Fällen an einer anderen Krankheit litten, auf Molybdän und Zink untersucht<sup>1)</sup>. In Tabelle 4 ist außer den Mittelwerten der beiden Gruppen auch das aus diesen Werten berechnete Verhältnis Zn/Mo wiedergegeben. Trotz den großen Streuungen sind die Unterschiede der Mittelwerte für Zink mit einer Verlässlichkeit von weit über 99,5% gesichert. Der statistischen Berechnung wurde die t-Verteilung zugrunde gelegt (4). Für die Verschiedenheit der Molybdän-Mittelwerte ergibt sich eine Vertrauensgrenze von über 99%. Bei Krebs wird also mehr Zink und weniger Molybdän im Urin ausgeschieden als sonst.

Tab. 4

Zink und Molybdän im Urin bei Krebs im Vergleich zur Nichtkrebs-Gruppe

	Anzahl n	Zn µg/l	Mo µg/l	Zn/Mo
Carcinom	77	2053 ± 1550	7,4 ± 8,6	278
Nicht-Carcinom	159	762 ± 555	12,1 ± 13,0	63

<sup>1)</sup> Die Diagnosen verdanken wir besonders auch den Herren Dr. KOMMERELL, Dr. WEISE und Dr. HEYMANN (damals Innere Klinik des Krankenhauses Stuttgart-Bad Cannstatt) und Dr. HERTING (damals Hals-Nasen-Ohren-Klinik des Katharinenhospitals Stuttgart).

Tab. 5

Untersuchungsergebnisse, die für die Berechnung der Mittelwerte nicht verwendet wurden

	Zn µg/l	Mo µg/l	Zn/Mo
Parotistumor (Malignom) nach Bestrahlung	800	10	80
Prostata-Carcinom, Cytostaticum seit über 1 Jahr, stationär trotz Knochenmetastasen	460	26	18
Stimmband-Carcinom, Radium-Einlagen, Endoxan-Behandlung	500	6,5	77
Nasen-Septom, bestrahlt	1350	24	56
Nichtcarcinomgruppe			
Hochgradige Kachexie, Debilität	2500	2	1250
Pyonephrose	2500	1,3	1900
Starke asthmatische Emphysebronchitis	1600	0,4	4000

Ausnahmen von dieser Regel haben wir aber immer wieder beobachtet. Trotz bestehendem Carcinom ergaben sich manchmal normale Zink- und Molybdängehalte. Auf der anderen Seite wurden in der Nicht-Carcinom-Gruppe hohe Zinkgehalte oder tiefe Molybdänwerte oder beides zusammen festgestellt. Einige besonders stark abweichende Fälle haben wir für die Berechnung der Tabelle 4 nicht verwertet. Es sind vier Carcinomfälle und drei Urine der Nichtcarcinom-Gruppe (Tab. 5). Die Carcinomfälle wurden ausgeschieden, weil bei ihnen eine Bestrahlung oder eine Behandlung mit einem Cytostaticum stattgefunden hatte. Unter den besonders stark von der Norm abweichenden Fällen der Nichtcarcinom-Gruppe befindet sich eine Nephrose. Diese Krankheit ist nach RECHENBERGER (5) oft mit einer hohen Zinkausscheidung im Urin verbunden. Auch bei Diabetes mellitus (6, 7) und Lebercirrhose (5, 8) ist der Zinkgehalt des Urins oft erhöht. Als Normalwerte werden für Zink im Urin 300–500 µg/Tag angegeben (5, 6), für Molybdän 20–30 µg/l (9, 10). Bei Gesunden, zu denen wir auch Patienten mit leichten Krankheiten wie vegetativer Dystonie gezählt haben, finden wir mit 430 µg/l Zink und 16,3 µg/l Molybdän ähnliche Werte (Tab. 6). Von diesen Normalwerten weicht die Nichtcarcinom-Gruppe der Tabelle 4 beim Zink nach oben, beim Molybdän nach unten ab. Das ist verständlich, weil sie in der Hauptsache nicht Gesunde, sondern Patienten umfaßt mit Krankheiten außer

Tab. 6

Zink- und Molybdän-Gehalt des Urins bei verschiedenen Krankheiten außer Krebs

Jahr der Untersuchung	Diagnose	Anzahl n	Zn µg/l	Mo µg/l	Zn/Mo
1958–64	Gesund	16	430 ± 146	16,3 ± 13,2	26
1958–61	Nephrose	5	1390 ± 895	5,0 ± 3,0	278
1958–61	Diabetes mellitus	9	1053 ± 541	3,4 ± 0,95	310
1963/64	Diabetes mellitus	5	1134 ± 570	4,9 ± 2,1	232
1958–61	Schwangerschaftsnephropathie	7	1620 ± 643	26 ± 30	62
1958–61	Lebercirrhose	8	569 ± 154	9,4 ± 9,5	61
1963/64	Lebercirrhose	10	741 ± 365	6,6 ± 3,3	112
1964	Schwere Pneumonie	2	2810	2,4	1170
1963	Perniciöse Anämie	1	2360	4	590
1963	Perniciöse Anämie nach Therapie		720	17	42

Krebs. Tabelle 6 bringt unsere Befunde bei einigen Krankheiten aus der Nichtcarcinom-Gruppe, zusammen mit Ergebnissen aus der neueren Zeit. Größere Änderungen im Zinkgehalt und meist auch im Molybdängehalt ergeben sich bei Nephrose, Diabetes mellitus, Schwangerschaftsnephropathie und bei zwei schweren Pneumonien, von denen die eine abszedierte und die andere mit einem Lungeninfarkt verbunden war. Nebenbei bemerkt werden auch nach einem Herzinfarkt manchmal starke Änderungen des Harnzinks und -Molybdäns gefunden. Diese Krankheitsfälle haben wir aus der Nichtcarcinom-Gruppe ausgeschieden, nicht dagegen die Lebercirrhosen, weil hier die Änderungen relativ klein sind. In die Tabelle 6 haben wir auch eine perniciose Anämie aufgenommen. Die großen Verschiebungen des Zink- und des Molybdän-Gehaltes verschwinden nach der Therapie.

Auch nach der Ausscheidung der erwähnten Krankheitsfälle erreicht die Nichtcarcinom-Gruppe noch nicht die für Gesunde geltenden Werte (Tab. 7), ein Zeichen, daß sie außer Lebercirrhosen noch andere Fälle von Krankheiten enthält, die mit einer Änderung des Zinks und des Molybdäns im Urin verbunden sind. Die großen bei einem Carcinom auftretenden Verschiebungen kommen trotzdem deutlich zur Geltung. In einer Fortsetzung der Untersuchung wurden die früheren Ergebnisse bestätigt (Tab. 7). Soweit sie den Zinkgehalt betreffen und für einen etwas anderen Zeitabschnitt wurden die neueren Untersuchungen schon veröffentlicht (11). Für den Zinkgehalt ist der Unterschied der Mittelwerte wieder mit einer Verlässlichkeit von über 99,5% gesichert, für Molybdän nur mit 97%.

Tab. 7

Zink- und Molybdän-Gehalt im Urin. Vergleich mit der bereinigten Nichtcarcinom-Gruppe. a: 1958—61; b: 1963—64

Diagnose	Anzahl n	Zn $\mu\text{g/l}$	Mo $\mu\text{g/l}$	Zn/Mo	
Carcinom	a	77	2053 $\pm$ 1550	7,4 $\pm$ 8,6	278
	b	24	2280 $\pm$ 1740	6,2 $\pm$ 3,8	368
Nichtcarcinom-Gruppe	a	138	676 $\pm$ 500	12,3 $\pm$ 11,8	55
	b	42	750 $\pm$ 373	10,3 $\pm$ 8,3	73

Als Extremwerte wurden ermittelt: 70 und 8200  $\mu\text{g/l}$  Zink; 0,4 und 88  $\mu\text{g/l}$  Molybdän; 6 und 5700 für Zn/Mo. Bei einem knochenzerstörenden malignen Prozeß stieg der Zinkgehalt des Urins bis auf 22000  $\mu\text{g/l}$  an. Wir haben überall die *Konzentration* angegeben und nicht die im Harn ausgeschiedene Tagesmenge. Diese Angabe ist zwar vorzuziehen, weil die tägliche Harnzinkmenge nicht von der Diurese abhängt (6). Soweit uns die Tagesharnmenge bekannt war, konnten wir uns aber überzeugen, daß sich die Mittelwerte nicht wesentlich ändern, wenn die Konzentrationen durch die täglichen Zinkmengen ersetzt werden. Das Verhältnis Zn/Mo ist unabhängig von der Umrechnung und wurde von uns aus diesem Grund eingeführt. Auch sind die

Ausschläge größer und differenzierter als bei den einzelnen Elementen.

### Diskussion

Nach unseren Untersuchungen enthält der Urin bei Krebs im Mittel über 2000  $\mu\text{g/l}$  Zink, d. h. dreimal so viel wie bei anderen Krankheiten und fünfmal so viel wie bei Gesunden. Dagegen scheiden Krebskranke mit dem Urin signifikant weniger Molybdän aus als die Nichtkarzinom-Gruppe. Das Verhältnis ist etwa 2:3 und im Vergleich zum Urin-Molybdän Gesunder etwa 1:2. Dementsprechend vergrößert sich Zn/Mo von 10—25 bei Gesunden und 50—70 bei nichtneoplastischen Krankheiten auf etwa 300 bei Krebs. Das Absinken des Molybdängehaltes im Harn ist nicht spezifisch für Krebs, ebensowenig wie die Zunahme des Zinks. Zn/Mo ist bei verschiedenen Krankheiten erhöht, wenn auch meist nicht so stark wie bei Krebs. Ein Zn/Mo-Verhältnis über 300 legt den Verdacht auf ein Carcinom nahe, besonders dann, wenn keine Nephrose und kein Diabetes bestehen. Eine Frühdiagnose auf dieser Basis ist allerdings kaum möglich, weil Zn/Mo anscheinend erst in einem fortgeschrittenen Stadium der Krankheit stark ansteigt. Der Schweregrad der Erkrankung scheint allgemein in einer gewissen Beziehung sowohl zum Zinkgehalt wie zum Molybdängehalt des Urins zu stehen.

Die Ursache für das Entstehen eines Carcinoms ist noch nicht bekannt. Die häufigen Veränderungen der Spurenelementgehalte in den Körperflüssigkeiten und Organen Krebskranker sind Grund genug, das Verhalten der Spurenelemente im Organismus in weitestem Umfang zu erforschen, gerade auch von Spurenelementen, die bisher mehr oder weniger vernachlässigt wurden. Bis vor kurzer Zeit waren solche Untersuchungen sehr erschwert, weil keine geeigneten Analysenmethoden zur Verfügung standen. Die Methoden waren nicht empfindlich genug. Noch mehr fiel ins Gewicht, daß sie es nicht gestatteten, viele Spurenelemente gleichzeitig zu erfassen. Die Entwicklung und Verfeinerung der Emissionsspektralanalyse und anderer Methoden ermöglicht heute eine umfassende Untersuchung der Spurenelemente in ihrer Bedeutung für den Organismus. — Die photographische Aufnahme der Spektren in der Emissionsspektralanalyse ist aber auch unter Verwendung des Auswertegerätes immer noch sehr zeitraubend. Es erfordert viel anstrengende Arbeit, wenn eine sehr große Zahl von Spektrallinien photometrisch ausgewertet werden soll, wie es für derartige Untersuchungen notwendig ist. Die volle Leistungsfähigkeit der Emissionsspektralanalyse kommt erst mit einem direkt-anzeigenden Spektralapparat zur Geltung, bei dem der mühsame und leicht zu Fehlern führende Umweg über die Photoplate wegfällt. Ein solches Gerät haben NUSBAUM, BUTT, GILMOUR und DIDIO 1961 (12) für ihre Untersuchungen einer größeren Zahl von Spurenelementen in den verschiedenen Organen verwendet.

Der DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT danke ich für die Förderung dieser Untersuchungen.

## Literatur

1. TIETZ, N. W., E. F. HIRSCH und B. NEYMAN, J. Amer. Med. Ass. 165, 1 (1957). C 1958 10088. — 2. OLSON, K. B., G. E. HEGGEN und C. F. EDWARDS, Cancer, Philadelphia 11, 554 (1958). C 1959 4178. — 3. PFEILSTICKER, K., Mikrochim. Acta (Wien) 319 (1956). — 4. HENRYSSON, St., O. W. HASELOFF und H. J. HOFFMANN, Kleines Lehrbuch der Statistik. Walter de Gruyter & Co., Berlin (1960). — 5. RECHENBERGER, J., Dtsch. Zschr. Verdauungskrrh. 18, 178 (1958). C 1960 7236. — 6. CONSTAM, G. R., W. LEEMANN und F. ALMASY, Schweiz. med. Wschr. 88, 1103 (1958). C 1959 7198. — 7. KRAINICK, H. G., B. MÜLLER-HILL, F. E. STRUVE, H. SUND und K. WALLENFELS, Klin. Wschr. 39, 1132 (1961); MELTZER, L. E., Amer. J. Med. Sc. 244, 282 (1962). — 8. VALLÉE, B. L. und J. G. GIBSON, J. biol. Chemistry 176, 435 (1948). — 9. TOMPSETT, S. L. und J. FITZPATRICK, Analyst 75, 279 (1950). — 10. MITCHELL PERRY jr., H. und E. F. PERRY, J. Clin. Invest. 38, 1452 (1959). C 1961 10262. — 11. WEISE, H. J., K. PFEILSTICKER und G. WIEGANDT, Verh. Dtsch. Ges. inn. Med., 70. Kongr., 358 (1964). — 12. NUSBAUM, R. E., E. M. BUTT, T. C. GILMOUR und S. L. DiDio, Amer. J. Clin. Path. 35, 44 (1961).

Dr. K. Pfeilsticker  
7 Stuttgart-Schönberg,  
Rotwiesenstr. 26

## Hochspannungselektrophorese der Kohlenhydrate, Glykoproteine und Glykopeptide

Von G. MEDGYESI

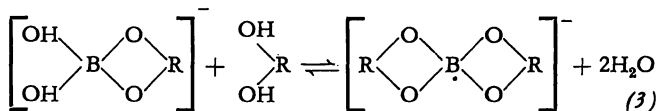
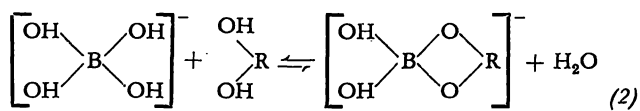
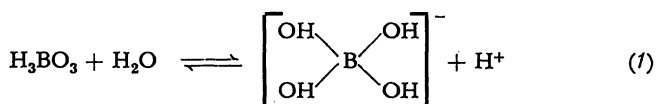
*Aus der Kinderklinik der Justus Liebig-Universität Giessen (Direktor: Prof. Dr. F. H. Dost)*

(Eingegangen am 1. Februar 1965)

Bei der Besprechung der Technik der Hochspannungselektrophorese der Kohlenhydrate werden die Apparatur, die Probleme der Kühlung, die Pufferlösungen, die Träger-Medien, die Färbemethoden und die Begriffe der Mobilität geschildert und auf Grund eigener Erfahrungen ergänzt. Des weiteren wird über Ergebnisse der Hochspannungselektrophorese der Kohlenhydrate auf Kieselgur G-Dünnschichten berichtet.

The technique of high voltage electrophoresis of carbohydrates is discussed. The apparatus, the problem of cooling, the buffer solutions, the carrier, colour location methods, and the concepts of mobility are briefly described and supplemented from experience. Further, results from the high voltage electrophoresis of carbohydrates on thin layers of Kieselgur G are reported.

Die Elektrophorese wird in der Chemie der Kohlenhydrate erst seit 10 Jahren angewandt. Den Grund dieser späten Verbreitung der Methode können wir vielleicht darin suchen, daß die meisten Kohlenhydrate in wäßriger Lösung ohne weiteres keine Ionen bilden und daher im elektrischen Felde nicht wandern. Man kann aber den Polyhydroxyalkoholen dennoch eine elektrische Ladung geben, da sie mit einigen elektronegativen Ionen zu *Komplexbildungen* fähig sind. So geht nach BOESEKEN (1) in Anwesenheit von Borationen die folgende Reaktion vor sich:



Derartige Komplexe bilden sich, wenn man mit Boratpuffer-Lösungen arbeitet, deren pH die Mobilität stark beeinflusst. Die mehrwertigen Zucker-Alkohole bilden Komplexe auch in Natrium-Arsenit, Natrium-Molybdat, basischem Blei-Acetat, Germanat und anderen Lösungen.

Elektroneutralen Substanzen kann man nach SANGER sowie nach CONSDEN und GORDON (2, 3) auch durch Oxydation ein Potential vermitteln.

Die sauren Kohlenhydrate, Glykoproteine und Glykopeptide bilden in wäßriger Lösung Ionen und wandern daher auch bei der Elektrophorese. Wenn die Moleküle der zwei letztgenannten Kohlenhydrate oder einiger Aminozucker ebenso viel basische wie saure Endgruppen enthalten würden, dann kann man auch bei geschickter Wahl des pH-Wertes unseres Puffers eine Wanderung im Potentialgefälle erreichen.

### Methodik

#### Apparatur

Man spricht von Hochspannungselektrophorese, wenn man so hohe Spannungen anwendet, daß die Support-Medien (Matrices) zur Abführung der Joule'schen Wärme gekühlt werden müssen. Derartige Kühlung ist notwendig, um unerwünschte Diffusionserscheinungen zu vermeiden und die Austrocknung der Support-Medien zu verringern. Die unerläßliche Kühlung wird manchmal als eine schwierige Aufgabe betrachtet. Wir haben uns jedoch davon überzeugt, daß, wenn wir unsere Papierstreifen oder andere Dünnschichten einfach auf eine von unten durch Wasser gekühlte Glasplatte legten, ohne weiteres 20–25 Volt/cm Spannungen (1000–2000 Volt Eingangsspannung) angelegt werden konnten. Bei der „immersed strip method“